



Réception des Membres élus en 2004

le 14 juin 2005

Signalisation cellulaire : de la membrane plasmique au noyau, et retour
Alain Israël

Le titre légèrement sybillin de ma présentation avait pour but d'indiquer qu'alors que ce que l'on appelle classiquement signalisation cellulaire débute en général au niveau d'un récepteur membranaire (ou intracellulaire), en réponse à un signal venu de l'extérieur de la cellule, pour se propager jusqu'au noyau, la démarche expérimentale et intellectuelle que mon équipe et moi-même avons suivie depuis une vingtaine d'années a emprunté le chemin inverse. En effet durant ma thèse, effectuée à Lyon sous la direction de Joseph Huppert, j'ai commencé à m'intéresser aux mécanismes de régulation de l'expression des gènes, en l'occurrence à ceux d'un virus grippal aviaire adapté aux cellules de mammifères.

J'étais alors dans une situation administrative confortable puisque j'avais été recruté par le CNRS à la fin de mon année de DEA, une situation qui semble inimaginable aux étudiants actuellement en stage dans mon laboratoire.

De Lyon, j'ai sauté à Stanford pour un stage post-doctoral dans ce qui était à l'époque (au début des années 1980) la Mecque de la biologie moléculaire, stage qui s'il ne s'est pas révélé très fructueux en terme de découvertes scientifiques, m'a permis de clarifier les questions que je souhaitais poser, et d'acquérir les techniques propres à m'aider à y répondre. Je tiens à cette occasion à remercier Stanley Cohen qui m'a permis de poursuivre une thématique eucaryote (en l'occurrence la régulation négative du gène POMC par les glucocorticoïdes), dans un laboratoire essentiellement consacré aux procaryotes.

C'est pendant ce stage que j'ai rencontré Philippe Kourilsky, qui m'a proposé une place dans son laboratoire à l'Institut Pasteur. A l'issue de mon stage post-doctoral, j'ai donc commencé à étudier le contrôle transcriptionnel de l'expression des gènes de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité, et c'est à cette occasion que, au sein d'un petit groupe qui incluait Frédérique Logeat, qui m'a suivi au cours de toutes ces années et à qui je tiens à rendre hommage, nous avons identifié une séquence régulatrice à laquelle se fixait une protéine présente de manière ubiquitaire dans les noyaux cellulaires. Cette séquence et cette protéine semblant être indispensables à l'expression des gènes MHC de classe I, nous avons décidé d'identifier cette protéine par la technique lourde, c'est à dire purification et microséquence. Nous avons ainsi préparé des extraits nucléaires à partir de 1000 litres de culture de cellules, ce qui nous a permis au final de cloner ce qui s'est révélé être la seule sous-unité constitutivement nucléaire (du moins en partie) de la famille NF- κ B. S'est ensuit une caractérisation biochimique des mécanismes de régulation de cette voie de signalisation, qui présentait alors un mode de fonctionnement unique : les protéines NF- κ B sont retenues dans le cytoplasme par des molécules d'ancrage, et sont libérées suite à la dégradation de ces

molécules induite par divers signaux d'activation, pour venir activer leurs gènes-cibles dans le noyau. Il est ironique de noter que lors de notre purification nous avons consciencieusement mis de côté (et jeté) les cytoplasmes de nos cellules, qui contenaient en fait (sous forme inactive) la majorité de la protéine que nous recherchions. C'est à partir de fractions cytoplasmiques que cette protéine sera d'ailleurs clonée quelques mois plus tard par le groupe de David Baltimore.

Je tiens à cette occasion à remercier Philippe Kourilsky qui m'a permis de poursuivre cette thématique de manière indépendante tout en me fournissant les moyens de faire face à la compétition internationale, qui s'est rapidement révélée encombrante.

Depuis maintenant 12 ans nos efforts ont été consacrés à élucider les mécanismes complexes qui contrôlent cette voie de signalisation. Ceci nous a en particulier permis d'identifier, en collaboration avec les groupes d'Arnold Munnich puis de Jean-Laurent Casanova à l'hôpital Necker, les premières pathologies humaines dues à des déficits complets ou partiels de cette voie d'activation. Ces observations devraient permettre non seulement de mettre en place des outils diagnostiques et d'envisager des traitements pour ces pathologies, mais elles ont aussi affiné notre compréhension des mécanismes moléculaires qui contrôlent cette voie.

Parallèlement nous avons entrepris depuis une dizaine d'années l'étude d'une seconde voie de signalisation, la voie Notch, qui était alors uniquement connue par des approches de génétique des invertébrés. Des études biochimiques utilisant des cellules de mammifères nous ont permis de montrer que cette voie fonctionne d'une manière unique, en ce sens que c'est le récepteur lui-même, après clivage provoqué par la fixation du ligand, qui est transporté dans le noyau et peut ainsi activer directement ses gènes-cibles.

Si je ne dois retenir qu'un fait nouveau parmi tout ce que l'étude de ces 2 voies de signalisation nous a enseigné, c'est le rôle universel des événements d'ubiquitination dans la signalisation cellulaire, rôle qui est probablement aussi important, quoique sans doute plus complexe, que celui connu depuis des décennies concernant la phosphorylation.

Pour terminer je tiens à préciser que l'étude des voies de signalisation, que ce soit chez les procaryotes ou chez les eucaryotes, se trouve actuellement à un tournant, provoqué par le séquençage de génomes en série, et par l'apparition de ce que les Anglo-Saxons appellent *systems biology* (ou étude intégrée des systèmes biologiques complexes), associé à de nouvelles technologies, ou à l'amélioration et à la démocratisation de technologies plus anciennes. Ces nouveaux outils permettent d'envisager une compréhension intégrée des différentes voies de signalisation activées dans une cellule par un stimulus donné, ou lors d'un événement de différenciation donné, ou mieux tout au long de la vie d'une cellule dans un organisme. Le nouvel objet d'étude n'est plus seulement le gène isolé mais le réseau d'interactions formé par l'ensemble des macromolécules (ADN, ARN, protéines). Expliquer les processus de régulation complexes, interactifs et dynamiques mis en oeuvre dans la cellule s'avère maintenant être un enjeu majeur de l'*après-génomique*. Néanmoins, malgré l'attrait intellectuel que représente l'espoir de comprendre la globalité de la réponse d'une cellule à ce qui se passe dans son environnement, je suis persuadé qu'il reste de la place pour la compréhension détaillée de voies de signalisation individuelles, et en particulier pour l'étude des conséquences physiologiques et pathologiques de leur dérégulation.